

Frecuencia de leucosis enzoótica bovina en hatos bovinos del Eje Cafetero, Colombia

Frequency of enzootic bovine leukosis in cattle herds in Eje Cafetero, Colombia

María Alejandra Martínez Medina¹, Wendy Catalina Ramírez González¹, Juan Carlos Echeverry López²

1 Universidad Tecnológica de Pereira

2 Docente Universidad Tecnológica de Pereira

Resumen

La leucosis enzoótica bovina (LEB) es una enfermedad del ganado bovino adulto causada por el retrovirus de la leucemia bovina (BLV). El ganado puede infectarse a cualquier edad, incluida la fase embrionaria. La mayoría de las infecciones son subclínicas, pero un porcentaje del ganado mayor de 3 años ($\approx 30\%$) desarrolla linfocitosis persistente y una pequeña proporción de linfosarcomas (tumores) en varios órganos internos. También se ha registrado infección natural en búfalos y ovejas. Los síntomas clínicos, cuando se presentan, dependen de los órganos afectados. El ganado con linfosarcomas casi siempre muere súbitamente o en semanas o meses después de la aparición de los síntomas clínicos. Los virus se pueden aislar por cultivo de linfocitos periféricos y la demostración del virus se puede lograr por microscopía electrónica o por pruebas de detección del antígeno de BLV. Por la reacción en cadena de la polimerasa se puede detectar el ADN del provirus en la sangre periférica o en los tumores. Los métodos más utilizados para su diagnóstico son la inmunodifusión en medio sólido (IGDA) de sueros o el enzimoimmunoensayo (ELISA) para sueros o muestras de leche. En muchos países estas pruebas constituyen la base de políticas acertadas de erradicación. También pueden utilizarse otras pruebas como el radioinmunoensayo. Se han

comercializado varios kits de pruebas IGDA y ELISA. No existen vacunas contra el BLV. Para la presente investigación se tomaron 20 animales mestizos de dos municipios del eje cafetero. El objetivo de este trabajo fue determinar si hay presencia de la enfermedad en estas fincas. Se realizó una prueba de PCR en el laboratorio de la Universidad Tecnológica de Pereira por el Dr. Juan Carlos Rincón. El análisis de los datos mostró una presencia de la enfermedad de un 10 %, mucho menor a otros resultados en el país. Esto puede ser debido a la muestra tan pequeña utilizada. Se debe reforzar la parte diagnóstica de esta enfermedad realizando trabajos con mayor cantidad de animales para determinar la presencia del virus en la región.

Palabras clave: Leucemia bovina, linfocitosis, linfosarcomas, retrovirus.

Abstract

Enzootic bovine leukosis (EBL) is an illness of adult bovine cattle caused by the Bovine leukemia virus. Cattle can be infected at any age, even in the embryonic stage. The majority of infections are subclinical, but a percentage of cattle older than 3 years ($\approx 30\%$) develop persistent lymphocytosis and a small proportion of lymphosarcomas (tumors) in various internal organs. The infection has also been registered in buffalos and sheep. Clinical symptoms, when visible, are dependent on the affected organs. Cattle with lymphosarcomas die suddenly or even weeks or months after clinical symptoms show up. Viruses can be isolated by culturing peripheral lymphocytes and the virus demonstration can be achieved by electronic microscopy or by BLV antigen detection tests. Polymerase chain reaction can detect the provirus DNA in the peripheral blood or in tumors. The most used methods for its diagnostic are Agar Gel Immunodiffusion (IGDA) or the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for serum or milk samples. In many countries, these assays constitute the base of successful eradication policies.

Other tests can also be used, like immunoassays. Various IGDA and ELISA tests have been marketed. There are no BLV vaccines. For the present investigation, 20 mestizo animals were taken from two municipalities of the Eje Cafetero. The objective of this grade work was to determine if there is presence of the illness in these farms. A PCR assay was done in the laboratory of the Universidad Tecnológica de Pereira by the Dr. Juan Carlos Rincón. The analysis of the data showed a presence of the virus of 10%, which is much lower than other results in the country. This can be due to the small amount of animals that were sampled. . The diagnostic part of this disease must be reinforced by carrying out work with a greater number of animals to determine the presence of the virus in the region.

Key Words: Bovine leukemia, lymphocytosis, lymphosarcoma, retrovirus

Introducción

La ganadería tiene gran importancia en Colombia pero presenta numerosos problemas, entre ellos las enfermedades que la afectan, tales como la leptospirosis, brucelosis, diarrea viral bovina, rinotraqueitis infecciosa bovina, neosporosis. Otra de las enfermedades es la leucosis bovina enzoótica (LEB), enfermedad grave debido a que la mayoría de los animales no presentan sintomatología clínica sino solamente una linfocitosis, lo cual los hace portadores sanos hasta su muerte(1,2)

La leucosis enzoótica bovina es una enfermedad que tiene una alta prevalencia en el país pero tiene una baja manifestación de síntomas, por lo cual, cuando se detecta, puede terminar en la muerte del animal. Hasta el momento no se ha descubierto ningún tratamiento ni vacuna. La transmisión es fácil ya que hay un alto nivel de portadores aparentemente sanos(3,4). Incluso en el eje cafetero se han encontrado haciendas con animales positivos para LEB, pero el diagnóstico

se ha llevado a cabo cuando se sospecha la existencia de la enfermedad y no como parte de un programa de identificación y control. Debido a lo anterior, el desconocimiento de la presencia de esta enfermedad genera una problemática en la producción ganadera en el país, ya que no se toman las medidas de precaución para llevar el país a ser libre de LVB

La ganadería tiene una especial importancia por su aporte al producto interno bruto agropecuario y a la demanda agregada a través del consumo de los hogares. Las mejoras tecnológicas y la distribución del hato entre llanura y piedemonte que se ha producido en los últimos años, ocurre por el margen de rentabilidad que ofrecen la tendencia de los precios y consumo, y la capacidad de competencia de la actividad frente a otros usos del suelo. La población ganadera y la producción anual dependen en gran medida de la dinámica que exprese el crecimiento de los mercados terminales(5).

Por lo anterior, la ganadería bovina en Colombia amerita una mayor atención, para encontrar verdaderos niveles de productividad y competitividad, que permitan generar un protagonismo necesario para la economía del país y que esté acorde con la magnitud del área destinada a esta actividad, aportando elementos para salir de la actual crisis económica, social, tecnológica y ambiental (5).

La importancia de programas de control y erradicación consiste en el cuantioso impacto económico, por muerte de animales o por decomiso de éstos a nivel de matadero, disminución en la producción de leche, en casos subclínicos y clínicos, segregación prematura de afectados; así como, disminución de la eficiencia reproductiva, imposibilidad de exportar reproductores o semen, por imposición de restricciones comerciales internacionales y el potencial zoonótico del virus(6).

En animales sintomáticos se presenta mediante linfosarcomas malignos y esto lleva a la muerte del paciente sin que se presente una sintomatología. La

transmisión puede ser vertical u horizontal, siendo la horizontal transmitida de la madre a la cría por medio de la placenta y calostro(1,2,4,7–10).

Se han realizado múltiples estudios en diversas regiones de Colombia. Para el 2014 se realizó un estudio epidemiológico donde se utilizó un método descriptivo observacional en 7 regiones alrededor del país, con un amplio número de fincas dentro de estas, con un total de al menos 5000 animales.

Muchos países europeos tienen programas nacionales que controlan la diseminación de la infección del virus de la leucemia bovina, esto significa que sus poblaciones de ganado están relativamente libres del VLB(2,4,11,12).

Se pueden realizar diferentes pruebas serológicas, siendo más común la ELISA, pero a veces éste virus no permite ser detectado ante los métodos diagnósticos. Para prevenir falsos positivos a causa de la transferencia pasiva de la inmunoglobulina en el calostro, se han hecho pruebas de PCR en animales menores de 6 meses.(4,13,14).

Otro estudio realizado en Colombia con razas criollas y algunas razas foráneas arrojó resultados muy dicientes con respecto a la presencia de la leucosis enzoótica bovina donde se demostró que esta enfermedad se presenta con más facilidad en las razas foráneas que en las criollas. También se probó que puede estar latente más en hembras que en machos. Adicionalmente, se presenta más en el norte del país que en otras regiones (15).

Según las investigaciones sobre una serie de casos donde la alimentación de los terneros jóvenes fue sustituida con un calostro importado de Canadá, arrojó un resultado en el que los animales fueron positivos a la leucosis enzoótica bovina. En el estudio determinaron que estos anticuerpos no fueron producto de la infección por el virus de la leucemia bovina sino de forma pasiva mediante la sustitución del calostro que estaba siendo comercializado en Reino Unido para la

alimentación de terneros recién nacidos. Aunque no se detectó ningún riesgo para la salud de los animales directamente relacionados, este producto tenía implicaciones en la vigilancia de VLB en países donde la LEB era endémica, ya que algún resultado positivo sobre esta enfermedad puede generar restricciones de control de enfermedades e investigaciones(16).

La prevalencia de la infección en ganado lechero canadiense es alta y sigue aumentando, teniendo en cuenta que no ha habido un programa de control para el virus de la leucemia bovina, se realizó un estudio para identificar importantes factores de riesgo para la infección del VLB siendo este un requisito para desarrollar un adecuado programa de control (17).

El virus de la leucemia bovina (VLB) es el causante de la leucosis enzoótica bovina. Es una enfermedad que se encuentra distribuida mundialmente con el inconveniente que hasta el momento no se ha descubierto ningún tratamiento ni vacuna(4). Normalmente se presenta mediante linfomas malignos y esto lleva a la muerte del paciente sin que se presente una sintomatología, sin embargo la leucosis enzoótica bovina no requiere de un reporte obligatorio en Colombia. La transmisión puede ser vertical u horizontal, siendo la horizontal transmitida de la madre a la cría por medio de la placenta y calostro(1,2,7,8,10).

El objetivo del presente trabajo fue determinar la frecuencia de Leucosis Enzoótica Bovina mediante la prueba de PCR Salting Out en un hato en el Eje Cafetero.

Materiales y métodos

El estudio se realizó en dos municipios del Eje Cafetero. Marsella en Risaralda y Calarcá en Quindío. Se tomaron 20 muestras, de las cuales fueron 2 machos y 18 hembras. Todos animales cruzados de diferentes razas.

Se tomaron 20 muestras de sangre al azar. Esta toma de muestras se realizó con tubos Vacutainer con anticoagulante (tapa lila) de 4 ml, agujas 21G x 1 1/2 in, las

cuales fueron llevadas por un medio refrigerado al laboratorio de la Universidad Tecnológica de Pereira donde fueron procesadas por el Dr. Juan Carlos Rincón Flórez. Se realizó la prueba de PCR Salting Out para determinar la presencia del LVB.

Se realizó análisis descriptivo de los resultados.

Resultados

El estudio de laboratorio mostró los siguientes resultados. De las 20 muestras analizadas, 2 son positivas y 18 negativas. Las dos positivas correspondieron al municipio de Marsella (Gráfico 1).

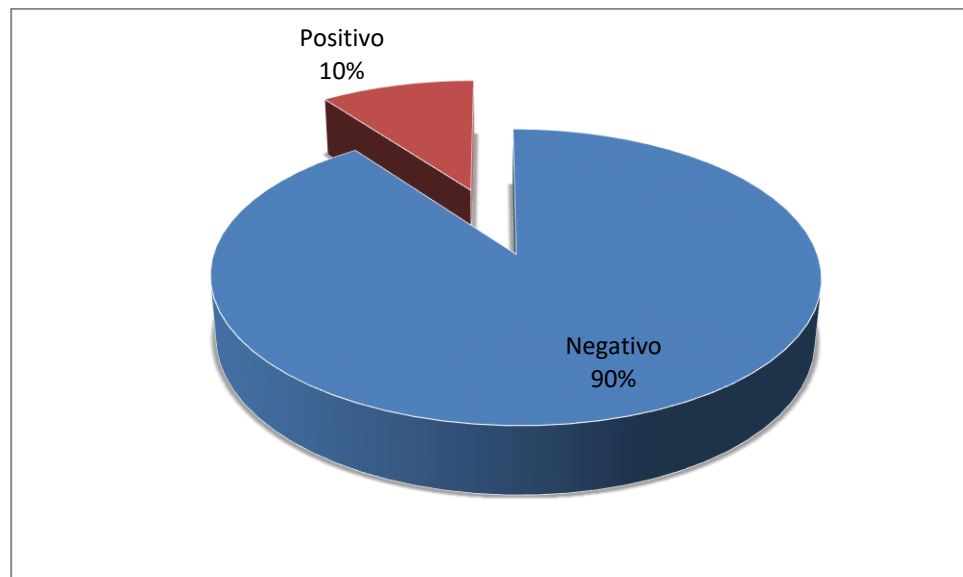


Gráfico 1: Resultado del porcentaje de animales positivos vs animales con VLB negativa.

Discusión

En el estudio presente se tomaron muestras de sangre de donde se analizaron por medio de PCR Salting Out para determinar la presencia del VLB.

Las pruebas serológicas como ensayo por inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA) e inmunodifusión en gel de agar (AGID) son las pruebas recomendadas por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) para el diagnóstico de la infección. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una metodología altamente sensible de diagnóstico directo para la infección con BLV(13, 14,15). Sin embargo, los resultados de ambas pruebas de diagnóstico (ELISA y PCR) pueden variar considerablemente de acuerdo con diferentes aspectos relacionados con las técnicas empleadas, como: las condiciones fisiológicas de los animales (estado de preñez, edad), el kit empleado para la prueba serológica, el método de extracción del ADN, entre otros.

En un estudio realizado en Colombia, con diferentes pruebas serológicas, donde se tomaron 1,000 muestras de sangre de vacas Holstein distribuidas en 10 municipios lecheros del Departamento de Antioquia, se utilizó el método ELISA con un kit comercial (SVANOVIR® BLV gp51-Ab) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La detección del genoma viral por PCR se determinó a partir del ADN de las muestras de células sanguíneas (leucocitos) de las 1,000 vacas. Con el uso de la PCR se logró detectar 47.6 % de muestras como positivas al BLV, mientras que el ELISA logró detectar un 54.6 %. (18)

En el estado de Pará en Brasil, también se hicieron estudios con pruebas serológicas en los cuales las frecuencias con propiedades positivas para el VLB, según ELISA fue de 75%, con animales positivos para la enfermedad en 5 de 7 propiedades que fueron muestreadas. (19)

El resultado de la presente investigación muestra una presentación baja de la enfermedad con respecto a otras regiones del país y del mundo. Se puede explicar debido al bajo número de animales muestreados.

Conclusiones

Aunque a diferencia de otros trabajos la presentación del virus fue baja, la presencia de la enfermedad está latente. Otros países tienen programas de erradicación de la enfermedad. Colombia no tiene este proceso.

Investigaciones recientes han asociado la presencia de BLV con cáncer de mama, esto ha aumentado la importancia de este virus y a pensar en programas de prevención y erradicación de la enfermedad en el país.

Recomendaciones

Se deben realizar trabajos para determinar la real presencia de la enfermedad en la región cafetera. Zonas como la Sabana de Bogotá y Antioquia, tienen diferentes estudios que señalan el porcentaje de presencia del virus. Son pocos los trabajos en el eje cafetero y los que se han hecho son con una mínima cantidad de animales. Se debe realizar primero un diagnóstico a mayor escala para saber el grado de afectación en esta zona.

Bibliografía

1. Maresca C, Costarelli S, Dettori A, Felici A, Iscaro C, Feliziani F. Enzootic bovine leukosis: Report of eradication and surveillance measures in Italy over an 8-year period (2005-2012). *Prev Vet Med* [Internet]. Elsevier B.V.; 2015;119(3–4):222–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.02.024>
2. Tsutsui T, Kobayashi S, Hayama Y, Yamamoto T. Fraction of bovine leukemia virus-infected dairy cattle developing enzootic bovine leukosis. *Prev Vet Med* [Internet]. Elsevier B.V.; 2016;124:96–101. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.11.019>
3. Ortega DO, Sánchez A, Tobón J, Chaparro Y, Cortés S, Gutiérrez MF.

Seroprevalence and risk factors associated with bovine leukemia virus in Colombia. *J Vet Med Anim Heal*. 2016;8(May):35–43.

4. Bauermann F V., Ridpath JF, Dargatz DA. Bovine leukemia virus seroprevalence among cattle presented for slaughter in the United States. *J Vet Diagnostic Investig* [Internet]. 2017;104063871770218. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1040638717702183>
5. Referencia MDE. Antecedentes de la VIS en Colombia. 2003;15–30.
6. Nava Z, Obando C, Molina M, Bracamonte M, Tkachuk O. seroprevalencia de la leucosis enzoótica bovina y su asociación con signos clínicos y factores de riesgo en rebaños lecheros del estado barinas, venezuela. *Rev la Fac Ciencias Vet. Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela*; 52(1):13–23.
7. Evidence S, The OF, Of O. Serological Evidence of the Occurrence of. 1997;15–9.
8. Juliarena MA, Barrios CN, Ceriani MC, Esteban EN. Hot topic: Bovine leukemia virus (BLV)-infected cows with low proviral load are not a source of infection for BLV-free cattle. *J Dairy Sci* [Internet]. American Dairy Science Association; 2016;99(6):4586–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030216301680>
9. Merlini R, Gutiérrez G, Alvarez I, Jaworski JP, Carignano H, Poli M, et al. Bovine leukemia virus becomes established in dairy herds before the first lactation. *Arch Virol*. 2016;161(11):3215–7.
10. Iwan E, Szczotka M, Kuźmak J. Application of in situ PCR for the Detection of Bovine Leukaemia Virus (BLV) Infection in Dendritic Cell cultures. *Bull Vet Inst Pulawy* [Internet]. 2014;58(3):347–52. Available from: <http://www.degruyter.com/view/j/bvip.2014.58.issue-3/bvip-2014-0054/bvip-2014-0054.xml>

11. Jaworski JP, Porta NG, Gutierrez G, Politzki RP, Álvarez I, Galarza R, et al. Short communication: Relationship between the level of bovine leukemia virus antibody and provirus in blood and milk of cows from a naturally infected herd. *J Dairy Sci* [Internet]. 2016;99(7):5629–34. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030216302090>
12. Feliziani F, Martucciello A, Iscaro C, Vecchio D, Petrini S, Grassi C, et al. Bovine leukemia virus: Experimental infection in buffaloes and evaluation of diagnostic test reliability. *Res Vet Sci*. 2017;114(February):450–4.
13. Herrera DYH, Terranova AMP, Benavides JA, Flórez JEM, Giovambattista G. Bovine leukosis virus detection in Creole Colombian breeds using nested-PCR. *Acta Agronómica* [Internet]. 2012;60(4):312–8. Available from: http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/28845/40342
14. Heinecke N, Tórtora J, Martínez HA, González-Fernández VD, Ramírez H. Detection and genotyping of bovine leukemia virus in Mexican cattle. *Arch Virol*. Springer Vienna; 2017;(123456789):1–6.
15. Herrera DYH, Terranova AMP, Benavides JA, Flórez JEM, Giovambattista G. Detección del virus de la leucosis bovina en ganado criollo colombiano mediante PCR-anidado. *Acta Agronómica* [Internet]. 2012;60(4):312–8. Available from: http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/28845/40342
16. Lysons R. Positive enzootic bovine leukosis serology results in calves from feeding a colostrum substitute. *Veterinary Record*. 2010. p. 88.
17. Nekouei O, Vanleeuwen J, Sanchez J, Kelton D, Tiwari A, Keefe G. Herd-level risk factors for infection with bovine leukemia virus in Canadian dairy herds. 2015;119:105–13.

18. Úsuga-Monroy C, Julián Echeverri-Zuluaga J, López-Herrera A. Detección molecular y serológica del virus de la leucosis bovina en una población de vacas Holstein, de Colombia. MolSerol Detect BovLeuk virus a Popul Holstein cows, from Colomb [Internet]. 2018;9(2):387–99. Available from: <http://10.0.87.47/rmcp.v9i2.4232%0Ahttp://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=128891067&lang=es&site=ehost-live>
19. De Oliveira CHS, Resende CF, Oliveira CMC, Barbosa JD, Fonseca AA, Leite RC, et al. Absence of Bovine leukemia virus (BLV) infection in buffaloes from Amazon and southeast region in Brazil. Prev Vet Med [Internet]. 2016;129:9–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.05.002>